中国生态农业学报 2016 年 5 月 第 24 卷 第 5 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, May 2016, 24(5): 618−627

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.151149

甘蔗间作玉米对甘蔗根际微生物代谢功能多样性的影响*

郑亚强[1] 张立敏[1] 杨进成[3] 杨 坚[4] 高 锐[4] 陈亮新[5] 董雪梅[4]
孙继红[5] 肖关丽[2**] 李正跃[1] 陈 斌[1**]

(1. 云南农业大学植物保护学院/农业生物多样性与病虫害控制教育部重点实验室 昆明 650201; 2. 云南农业大学农学与生物技术学院 昆明 650201; 3. 云南省玉溪市农业科学院 玉溪 653100; 4. 云南省陇川县植保植检站 陇川 678700; 5. 云南省元江县农技站 元江 653300)

摘 要 为探讨甘蔗间作玉米种植对甘蔗根际土壤微生物群落功能多样性的影响，在云南元江和陇川甘蔗种植区设置甘蔗间作玉米和单作甘蔗田间小区试验，采用 Biolog 技术研究了甘蔗间作玉米对甘蔗根际微生物代谢功能的影响。结果表明：陇川试验点甘蔗间作玉米田土壤微生物代谢功能多样性指数 Shannon 多样性指数、Simpson 指数、McIntosh 指数、Shannon 均匀度指数和 McIntosh 均匀度指数分别比甘蔗单作田提高 7.08%、11.25%、63.16%、1.31%和 2.26%；元江试验点，甘蔗间作玉米田土壤微生物代谢功能多样性指数 Shannon 多样性指数、Simpson 指数、McIntosh 指数、Shannon 均匀度指数和 McIntosh 均匀度指数分别比甘蔗单作田提高 10.58%、48.40%、43.42%、0.20%和 1.65%。由此表明甘蔗间作玉米种植提高了甘蔗根际土壤微生物的多样性。甘蔗间作玉米种植提高了甘蔗根际微生物对碳源的利用率，且元江甘蔗根际土壤微生物对碳源的利用效率低于陇川。与单作甘蔗相比，元江试验点间作甘蔗根际碳水化合物类、氨基酸类、多聚物类、胺类、羧酸类和酚酸类利用率分别提高 141.71%、50.53%、62.38%、92.82%、43.21% 和 6.30%，陇川试验点分别提高 42.90%、51.50%、33.30%、42.64%、16.72% 和 24.47%。其中，两个试验区间作田甘蔗根际土壤微生物对碳源 D-纤维二糖、D,L-a-甘油、D-半乳糖-γ-内酯、L-丝氨酸、甘氨酰-L-谷氨酸和 2-羟苯甲酸的利用率比单作显著提高 100%以上。通过主成分分析，发现甘蔗与玉米间作改变了甘蔗根际微生物的群落组成及其代谢功能，且碳水化合物类、羧酸类和氨基酸这 3 类碳源是区分甘蔗单作和间作处理间差异的敏感碳源。陇川试验点，对土壤微生物代谢功能影响较大的碳源主要包括 2 种多聚化合物、6 种碳水化合物、2 种羧酸类化合物、4 种氨基酸和 1 种酚酸；元江试验点，对土壤微生物代谢功能影响较大的碳源主要包括 1 种多聚化合物、5 种碳水化合物、3 种羧酸类化合物、4 种氨基酸和 2 种胺类化合物。综上所述，宿根甘蔗间作玉米提高了甘蔗根际微生物群落的多样性，增加了根际微生物的活性，改变了微生物群落的代谢功能。研究结果可为作物间作对土壤微生物多样性分析及增产机理研究提供新的思路和理论基础。

关键词 甘蔗间作玉米 根际土壤 微生物群落 代谢功能
中图分类号: S154.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2016)05-0618-10

Effects of sugarcane and maize intercropping on sugarcane rhizosphere microbe metabolic function diversity*

ZHENG Yaqiang[1], ZHANG Limin[1], YANG Jincheng[3], YANG Jian[4], GAO Rui[4], CHEN Liangxin[5], DONG Xuemei[4], SUN Jihong[5], XIAO Guanli[2**], LI Zhengyue[1], CHEN Bin[1**]

(1. Key Laboratory of Agro-biodiversity and Pest Management of China's Ministry of Education / College of Plant Protection, Yunnan

* 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2011CB100404)、云南省政府特色农业产业专项(云财农[2013]364 号)和云南省教育厅科学研究基金重大专项(ZD2015006)资助

** 通讯作者：肖关丽，主要从事作物栽培与植物生理方面的研究，E-mail: glxiao9@163.com；陈斌，主要从事农业昆虫与害虫综合治理方面的研究，E-mail: chbins@163.com
郑亚强，主要从事昆虫农业生物多样性与害虫综合防治研究。E-mail: 736364746@qq.com

收稿日期: 2015−10−26 接受日期: 2015−12−17

* This work was supported by National Basic Research Programs of China (973 Program, No. 2011CB100404), the Special Agricultural Industry Project of Yunnan Province (Yunnan Finance and Agriculture [2013] No. 364), and the Key Special Science and Technology Project of Education Department of Yunnan Province (No. ZD2015006).

** Corresponding author: XIAO Guanli, E-mail: glxiao9@163.com; CHEN Bin, E-mail: chbins@163.com

Received Oct. 26, 2015; accepted Dec. 17, 2015

Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 3. Academy of Agricultural Sciences and Technology of Yuxi City, Yuxi 653100, China; 4. Plant Protection and Plant Quarantine Station of Longchuan County, Longchuan 678700, China; 5. Agricultural Technique Center of Yuanjiang County, Yuanjiang 653300, China)

Abstract Sugarcane-maize intercropping is an important planting pattern in sugarcane production area, which is in favor of sugarcane production benefit and land use efficiency increases, and pesticide control of sugarcane. However, the effects of sugarcane and maize intercropping on sugarcane rhizosphere microbe community have less been reported. In this study, a plot experiment was carried out in sugarcane fields in Yuanjiang and Longchuan Counties of Yunnan Province to investigate the microbe activities, metabolic function diversity and carbon sources utilization by using Biolog techniques. The results showed that compared with monocultured sugarcane at Longchuan County experimental site, Shannon index, Simpson index, McIntosh index and evenness index of Shannon and McIntosh of microbial communities in rhizosphere soils of intercropped sugarcane increased by 7.08%, 11.25%, 63.16%, 1.31% and 2.26%, respectively. Then, compared with sugarcane monoculture in Yuanjiang County, the above diversity indices increased by 10.58%, 48.40%, 43.42%, 0.20%, and 1.65%, respectively, in intercropped sugarcane treatment. This suggested that intercropping increased the metabolic function diversity of rhizosphere soil microbes. Although the utilization of carbon resources increased in intercropping systems, it was lower at Yuanjiang experimental site than that at Longchuan experimental site. Compared with monoculture, the utilization of carbohydrate, amino acids, polymeric substances, amines, carboxylic acids and phenolic acids increased by 141.71%, 50.53%, 62.38%, 92.82%, 43.21% and 6.30%, respectively, at Yuanjiang experimental site. Correspondingly, the variables increased, respectively by 42.90%, 51.50%, 33.30%, 42.64%, 16.72% and 24.47% at Longchuan experimental site. Moreover, the utilization of D-cellobiose, D,L-α-glycerol phosphate, D-galactonic acid-γ-lactone, L-serine, Glycyl-L-Glutamine and 2-Hydroxy benzoic acid increased by over 100% at both of Yuanjiang and Longchuan experimental sites. The results of principal component analysis (PCA) suggested that intercropping changed rhizosphere soil microbial community composition and metabolic function. Three carbon resources (including carbohydrate, carboxylic acids and amino acids) were the most sensitive carbon resources utilized by soil microorganisms in sugarcane rhizosphere soils. The carbon resources with high effect on microbial community composition and metabolic function at Longchuan experimental site were 2 kinds of polymeric substances, 6 kinds of carbohydrates, 2 kinds of carboxylic acids, 4 kinds of amino acids and 1 kind of phenolic acid. There were 15 kinds of carbon resources (including 1 kind of polymeric substances, 5 kinds of carbohydrates, 3 kinds of carboxylic acids, 4 kinds of amino acids and 2 kinds of amines) at Yuanjiang experimental site. These carbon resources had significant effect on microbial community composition and metabolic function. In conclusion, intercropping of maize and sugarcane increased microbial community diversity, activation and metabolic function of rhizosphere soil.

Keywords Sugarcane and maize intercropping; Rhizosphere soil; Microbial community; Metabolic function

土壤微生物作为土壤生态系统重要的组成部分，参与了土壤有机质分解、养分转化的过程[1]，是土壤养分和质量评价的重要指标[2]。土壤微生物多样性是土壤生态系统结构与功能的综合表现，反映了土壤中物质代谢的旺盛程度及土壤环境与微生物群落的相互适应性[3–4]，不同栽培方式和作物对土壤微生物群落均会产生不同的影响[5]，合理的农业种植措施对土壤微生物群落结构和代谢功能多样性等均具有积极的调控作用[4,6]，长期的作物连作则会使土壤微生物量下降、微生物多样性发生改变以及群落结构失衡[7–12]，间作可以显著提高土壤微生物数量和微生物多样性指数，尤其是土壤微生物对土壤碳源的利用[5,7]。作物多样性种植对土壤微生物结构及其功能影响的研究已成为近年来土壤地力保护及作物多样性种植生态效应研究的热点。甘蔗(*Saccharum officinarum*)是世界范围内重要的糖类和能源作物，单一的宿根连作可导致根际土壤总微生物量及酶活性下降[13]，甘蔗与大豆(*Glycine max*)、花生(*Arachis hypogaea*)间作能提高土壤微生物和土壤酶活性[13–14]，宿根甘蔗套种大豆能明显改善根际土壤微生物区系[13]。合理密度间作甘蔗与玉米(*Zea mays*)能不同程度提高经济效益、土地利用率、甘蔗产量和其他农艺性状[15]，并有效控制亚洲玉米螟(*Ostrinia nubilalis*)[16]和其他甘蔗害虫的为害[17–18]，因而已成为国内外许多甘蔗生产地区普遍采用的一种种植模式[19–20]。Suman等[21]研究发现甘蔗与玉米间作能使土壤有机碳含量增加25%、土壤微生物呼吸速率增加42%。但就甘蔗玉米间作对根际微生物群落多样性及其功能的研究尚少见报道。本研究以云南省南部干热河谷甘蔗区和南部甘蔗种植区为基地，利用Biolog技术对与玉米间作种植的甘蔗根际土壤微生物群落功能多样性进行研究，以

期为保护农田生态系统，建立合理的甘蔗玉米多样性种植方式提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

本研究试验点设在云南省甘蔗主产区德宏州陇川县章风镇拉勐村甘蔗种植区(N24°28′20″，E98°01′45″)和云南省玉溪市元江县红光农场甘蔗种植基地(N23°36′26.1″, E101°57′23.4″)。陇川县位于云南省西部，属南亚热带季风气候，雨量充沛、日照充足、热量丰富，四季不明显，历年平均气温 18.9 ℃。元江县位于云南省中南部，地处低纬高原，属季风气候，年平均气温 12~24 ℃，冬暖夏热，冬春干旱风大，夏秋多雨湿润，干湿季明显，雨热同季的气候。

试验小区采用单因素随机区组设计，设甘蔗单作、甘蔗间作玉米 2 个处理，每个处理设 3 个小区，每个小区 200 m^2。

甘蔗品种为‘粤糖 93-159’，宿根种植 1 年；玉米品种为‘会单 4 号’。甘蔗宽窄行种植，宽行距 110 cm，窄行距 70 cm，甘蔗株距 20 cm；在甘蔗宽行垄上穴播种植 1 行玉米，玉米株距为 20 cm，即为玉米甘蔗间作种植。单作甘蔗也为宽窄行种植，宽行距 110 cm，窄行距 70 cm，甘蔗株距 20 cm。根据当地生产实际，元江和陇川试验点玉米分别于 2 月 15 日和 2 月 25 日种植，玉米与甘蔗间作时期为 180 d。

1.2 土壤的采集

土壤样品于 2014 年 9 月 16 日和 9 月 28 日分别采集于陇川和元江甘蔗/玉米间作区和单作区甘蔗根际土壤，每小区按 Z 字形五点法取样，每点取 2 株，采用抖土法采集甘蔗根际土壤，再按四分取样法收集土样[22]，将收集的样品于无菌袋中密封。立即带回实验室于 4 ℃冰箱保存，次日进行 Biolog 测定。

1.3 土壤微生物活性测定

Biolog ECO 微孔板分析能够在一定程度上反映根际微生物变化与根系分泌物利用的关系[23]。本研究采用 Biolog-ECO(31 种碳源)进行土壤微生物代谢功能多样性分析测定。称取 10.0 g 土壤加入 90 mL 无菌生理盐水(0.85%)溶液中，在摇床上振荡 30 min，4 ℃冰箱静置 10 min，取上清液稀释 1 000 倍，取 150 μL 稀释液至 Biolog-ECO 板的微孔中，接种好的板置于 25 ℃恒温培养[24]，分别于 4 h、12 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h、144 h、168 h 和 192 h，在 Biolog EmaxTM 自动读盘机上用 Biolog Reader 4.2 软件(Biolog, Hayward, CA, USA)读取 590 nm 波长的光密度值。

1.4 数据分析

平均颜色变化率(AWCD)是反映土壤微生物对总体碳源的利用能力，表征其生物活性的一个重要指标[23]，其值越高，微生物的活性越强[25–26]。因此，本研究以 590 nm 下的各孔吸光值减去空白对照微孔的光密度值作为分析数据，用 31 个孔的平均颜色变化率(AWCD)作为整体活性的有效指标。采用培养 96 h 的数据进行微生物多样性指数计算[27]，以及进行碳源利用分析和主成分分析，该主成分分析参照毛如志等[28]方法，在 Microsoft office Excel 2010 里加载 MultiBase 2015 的宏后，设置变量选项和样品选项，并对数据进行分类，最后进行计算导出图形。文中热力图的绘制采用 MetaboAnalyst 3.0 在线生成，其中聚类方法中样本归类距离为欧氏距离 Euclidean。

甘蔗单作与间作田根际微生物 AWCD 值、多样性指数、碳源的利用率等数据用 Microsoft Excel 2010 整理，采用 SPSS 20.0 进行差异显著性分析(α=0.05)。

2 结果与分析

2.1 间作对甘蔗根际土壤微生物活性的影响

从图 1 可以看出，在 4~24 h 内，各处理 AWCD 值变化不明显，在 24~96 h 急剧上升，120 h 后几乎处于稳定状态。在培养 96 h，陇川间作甘蔗的 AWCD 值比单作甘蔗值提高 74.08%(F=0.918，P>0.05)，而元江的 AWCD 值提高 74.68%(F=0.238, P>0.05)。在整个培养周期中无论是元江试验点还是陇川试验点，培养 24 h 后，单作甘蔗根际土壤微生物的 AWCD 均低于间作甘蔗。由此表明，甘蔗间作玉米提高了甘蔗根际土壤微生物的活性。

2.2 间作对甘蔗根际土壤微生物多样性指数的影响

对培养 96 h 各处理土壤进行测定，计算各处理微生物代谢功能多样性指数(表 1)。结果显示，陇川试验点间作甘蔗田的 Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数和 McIntosh 均度均显著高于单作甘蔗田(F=5.907，P=0.001；F=1.083，P=0.006；F=2.646，P=0.007；F=0.998，P=0.002)，Shannon 均度则无显著差异(F=1.247，P=0.055)。元江试验点甘蔗间作田甘蔗根际土壤微生物群落多样性指标结果与陇川试验点相似，Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数和 McIntosh 均度也均显著高于单作甘蔗田(F=0.031，P=0.001；F=3.866，P=0.001；F=2.317，P=0.002；F=0.01，P=0.048)，Shannon 均度也无显著差异(F=2.067，P=0.932)。陇川试验点甘蔗间作玉米田 Shannon 多样性指数、Shannon 均匀度指数、

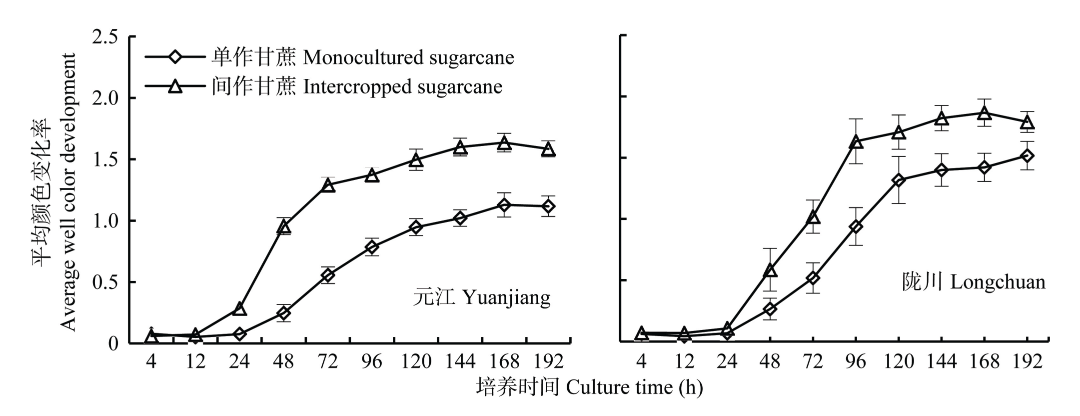


图 1　甘蔗间作玉米对云南元江和陇川甘蔗根际土壤微生物平均颜色变化率的影响

Fig. 1　Changes of average well color development (AWCD) of microorganisms in rhizosphere soils of intercropped and monocultured sugarcanes in Yuanjiang and Longchuan of Yunnan Province

表 1　甘蔗间作玉米对云南元江和陇川甘蔗根际土壤微生物群落代谢功能多样性指数

Table 1　Metabolic function diversity indices of microbial communities in rhizosphere soils of intercropped and monocultured sugarcanes in Yuanjiang and Longchuan of Yunnan Province

试验点 Experiment site	处理 Treatment	Shannon 指数 Shannon diversity index	Shannon 均度 Shannon evenness	Simpson 指数 Simpson index	McIntosh 指数 McIntosh index	McIntosh 均度 McIntosh evenness
陇川 Longchuan	甘蔗单作 Monocultured sugarcane	3.134±0.043b	0.990±0.007a	24.690±0.4995b	5.918±0.590b	0.974±0.005b
	甘蔗间作 Intercropped sugarcane	3.356±0.015a	1.003±0.004a	27.467±0.733a	9.656±1.107a	0.996±0.003a
元江 Yuanjiang	甘蔗单作 Monocultured sugarcane	2.911±0.042b	0.990±0.024a	15.162±0.516b	6.248±0.277b	0.967±0.007b
	甘蔗间作 Intercropped sugarcane	3.219±0.040a	0.992±0.013a	22.501±1.146a	8.961±0.587a	0.983±0.007a

同列数据不同字母分别代表陇川和元江的两个处理间在 0.05 水平下差异显著。Values followed by different letters in the same column for the same site are significantly different at 0.05 level.

Simpson 指数、McIntosh 指数和 McIntosh 均匀度指数分别比与甘蔗单作田提高 7.08%、1.31%、11.25%、63.16%和 2.26%；元江试验点，甘蔗间作玉米田 Shannon 多样性指数、Shannon 均匀度指数、Simpson 指数、McIntosh 指数和 McIntosh 均匀度指数分别比与甘蔗单作田提高 10.58%、0.20%、48.40%、43.42%和 1.65%。由此表明甘蔗间作玉米种植提高了甘蔗田甘蔗根际土壤微生物的多样性。

2.3　间作对甘蔗根际土壤微生物各类碳源利用的影响

甘蔗田间作玉米提高了甘蔗根际微生物对碳源的利用率，如图 2 所示，元江和陇川试验点单作田与间作田 3 个小区土壤微生物利用碳源效率分别聚为一类，而元江间作甘蔗根际微生物对碳源的利用效果则与陇川试验点的单作和间作田聚为一类，元江单作蔗田则单独聚为一类。从两个试验点的情况来看，元江试验点单作甘蔗根际土壤微生物对碳源利用率低于间作甘蔗田，陇川试验点也表现出相同的规律，但是两个试验点间作田根际土壤微生物在对各类碳源的利用率提高幅度上存在差异，总体表现为元江甘蔗根际土壤微生物对碳源的利用效率低于陇川。

从单作与间作田甘蔗根际土壤微生物对不同碳源的利用率来看，元江试验点间作显著提高了对碳水化合物类、氨基酸类、多聚物类、胺类利用率(F=0.879，P=0.003；F=4.665，P=0.001；F=8.34，P=0.009；F=1.373，P=0)，分别提高了 141.71%、50.53%、62.38%和 92.82%，而羧酸类和酚酸类分别提高了 43.21%和 6.30%，但是未达到显著性水平(F=0.005, P=0.082; F=1.083, P=0.729)。而在陇川试验地，与单作相比，间作玉米使甘蔗根际土壤微生物显著提高对碳水化合物类、氨基酸类、羧酸类和多聚物类的平均利用率(F=0.263，P=0.001；F=6.365，P=0.013；F=1.187，P=0.013；F=2.546，P=0.001)，分别提高了 42.90%，51.50%，33.30%和 42.64%，胺类和酚酸类提高平均利用率 16.72%和 24.47%，但是未达到显著性水平(F=1.023，P=0.358；F=5.973，P=0.242)。其中两个试验区，间作田甘蔗根际土壤微生物对碳源 D-纤维二糖、D,L-a-甘油、D-半乳糖-γ-内酯、L-丝氨酸、甘氨酰-L-谷氨酸、2-羟苯甲酸的利用率比单作显著提高，其提高率均达 100%以上。

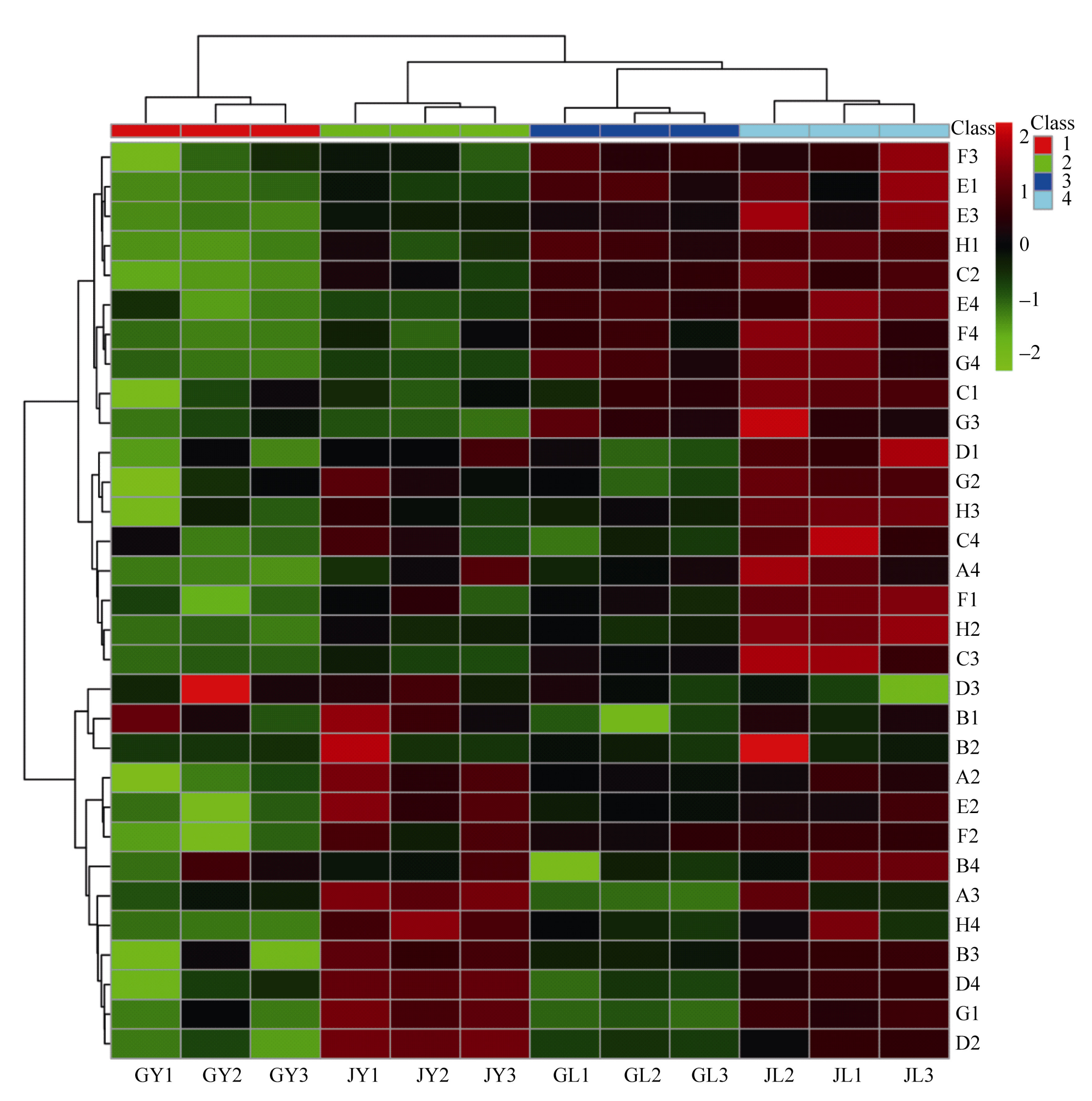


图 2　甘蔗间作玉米对云南元江和陇川甘蔗根际土壤微生物对各类碳源利用的影响

Fig. 2　Utilization of 31 sole carbon sources by microorganisms in rhizosphere soils of intercropped and monocultured sugarcanes in Yuanjiang and Longchuan of Yunnan Province

B1: 丙酮酸甲酯; C1: 吐温 40; D1: 吐温 80; E1: α-环式糊精; F1: 肝糖; G1: D-纤维二糖; H1: α-D-乳糖; A2: β-甲基-D-葡萄糖苷; B2: D-木糖; C2: i-赤藓糖醇; D2: D-甘露醇; E2: N-乙酰基-D-葡萄糖胺; F2: D-葡萄糖胺酸; G2: 葡萄糖-1-磷酸盐; H2: D,L-α-甘油磷酸盐; A3: D-半乳糖酸-γ-内酯; B3: D-半乳糖醛酸; C3: 2-羟基苯甲酸; D3: 4-羟基苯甲酸; E3: γ-羟基丁酸; F3: 衣康酸; G3: α-丁酮酸; H3: D-苹果酸; A4: L-精氨酸; B4: L-天冬酰胺酸; C4: L-苯基丙氨酸; D4: L-丝氨酸; E4: L-苏氨酸; F4: 葡萄糖-L-谷氨酸; G4: 苯基乙胺; H4: 腐胺。JL1~3 分别代表陇川试验点间作处理的 3 个重复试验小区, GL1~3 分别代表陇川试验点甘蔗单作处理的 3 个重复试验小区, JY1~3 分别代表元江试验点甘蔗间作处理的 3 个重复试验小区, GY1~3 分别代表元江试验点甘蔗单作处理的 3 个重复试验小区。B1: Pyruvic acid methyl ester; C1: Tween-40; D1: Tween-80; E1: α-Cyclodextrin; F1: Phenylethylamine; G1: D-cellobiose; H1: α-D-lactose; A2: β-methyl-D-glucoside; B2: D-xylose; C2: i-ery-hritol; D2: D-mannitol; E2: N-acetyl-D-glucosamine; F2: D-glucosaminic acid; G2: Glu-cose-1-phosphatei; H2: D,L-α-glycerol phosphate; A3: D-galactonic acid-γ-lactone; B3: D-galactu-ronic acid; C3: 2-Hydroxy benzoic acid; D3: 4-Hydroxy benzoic acid; E3: γ-hydroxybutyric acid; F3: Itaconic acid; G3: α-ketobutyricacid; H3: D-malic acid; A4: L-arginine; B4: L-asparagine; C4: L-phenylalanine; D4: L-serine; E4: L-threonine; F4: Glycyl-L-glutamic acid; G4: Phenylethylamine; H4: Putrescine. JL1–3 and GL1–3 are three plots of intercropped and monocultured sugarcane in Longchuan, respectively. JY1–3 and GY1–3 are three plots of intercropped and monoculured sugarcane in Yuanjiang, respectively.

2.4　甘蔗根际土壤微生物群落结构的主成分分析

以培养 96 h 的测定数据为依据进行主成分分析, 如图 3 所示。陇川试验点主成分 1 的变异为 57.3%, 主成分 2 的变异为 17.3%, 两主成分的总贡献率为 74.6%; 元江试验点主成分 1 的变异为 60.6%, 主成分 2 的变异为 18.9%, 两主成分的总贡献率为 79.5%。因此主成分 1 和主成分 2 基本上能反映大部分差异。单作甘蔗与间作甘蔗被 PC1 轴区分, 在陇川试验结果中单作甘蔗位于第 2 象限, 而间作甘蔗位于第 1、4 象限; 在元江单作甘蔗位于第 2、3 象限, 间作甘蔗位于第 1 象限。两个试验点结果说明甘蔗间作玉米改变了甘蔗根际土壤微生物的群落结构。

根据 Choi 等[29]对碳源的选择标准, 载荷绝对值大于 0.18 的碳源对主成分影响较大。从表 2 可看出,

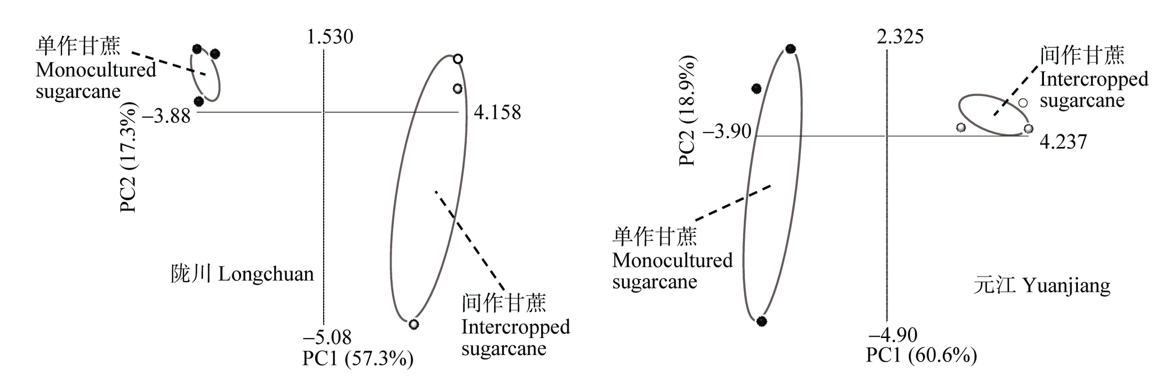


图 3　云南元江和陇川与玉米间作甘蔗和单作甘蔗根际土壤微生物碳源利用的主成分分析

Fig. 3　Principal component analysis for carbon utilization of microorganisms in rhizosphere soils of intercropped and monocultured sugarcanes in Yuanjiang and Longchuan of Yunnan Province

表 2　云南元江和陇川与玉米间作甘蔗和单作甘蔗根际土壤微生物对 31 种碳源利用在 PC1、PC2 上的载荷 (Loading>0.18 和 Loading<–0.18)

Table 2　Most heavily loaded 31 sole-carbon sources substrates on the first (loading>0.18) and the second (loading<–0.18) principal components (PC) used by microorganisms in rhizosphere soils of intercropped and monocultured sugarcanes in Yuanjiang and Longchuan of Yunnan Province

碳源类型 Carbon substrate type	碳源 Carbon substrate	陇川 Longchuan		元江 Yuanjiang	
		PCA1	PCA2	PCA1	PCA2
多聚化合物类 Polymers	吐温 40 Tween-40	—	—	—	0.32
	吐温 80 Tween-80	0.20	—	0.25	—
	α-环式糊精 α-Cyclodextrin	—	—	—	—
	肝糖 Glycogen	0.24	—	—	—
碳水化合物类 Carbohydrates	D-纤维二糖 D-cellubiose	0.23	—	0.20	—
	α-D-乳糖 α-D-Glucopyranose	—	—	—	—
	β-甲基-D-葡萄糖苷 β-D-glucopyranoside	0.24	—	0.19	—
	D-木糖 D-xylose	—	−0.39	—	—
	i-赤藻糖醇 i-Erythritol	—	−0.32	—	—
	D-甘露醇 D-甘露醇	0.26	—	0.25	—
	N-乙酰基-D-葡萄胺 D-N-Acetylglucosamine	0.22	—	0.22	—
	葡萄糖-1-磷酸盐 Glucose-1-phosphate	0.19	—	—	0.22
	D,L-α-甘油 D-glyceric acid	0.22	—	0.22	—
	D-半乳糖内酯 D-galactono-lactone	—	−0.31	—	0.21
酚酸类化合物 Phenolic acids	2-羟苯甲酸 2-Dihydroxybenzoic acid	—	—	—	—
	4-羟基苯甲酸 4-Hydroxybenzoic acid	−0.20	−0.23	—	0.28
羧酸类化合物 Carboxylic acids	γ-羟基丁酸 4-hydroxy-butyric acid	—	−0.19	0.23	—
	衣康酸 Itaconic acid	—	0.20	—	0.22
	α-丁酮酸 α-Ketobutyric acid	—	−0.41	−0.24	0.26
	D-苹果酸 D-Malic acid	0.24	—	—	0.22
	丙酮酸甲脂 Pyruvic acid methyl ester	—	—	—	−0.26
	D-半乳糖醛酸 D-Galacturonic acid	0.24	—	—	0.19
	D-葡萄胺酸 D-Glucosaminic Acid	—	—	0.23	—
氨基酸 Amino acid	L-精氨酸 L-arginine	—	—	0.31	—
	L-天冬酰胺酸 L-Asparagine	0.24	—	—	0.36
	L-苯基丙氨酸 L-phenylalanine	0.22	—	—	−0.26
	L-丝氨酸 L-serine	0.24	—	0.20	—
	L-苏氨酸 L-Threonine	0.22	0.23	0.19	−0.35
	甘氨酰-L-谷氨酸 Glycyl-L-Glutamine	—	−0.19	0.28	—
胺类化合物 Amines	苯乙基胺 Phenethylamine	—	−0.24	0.25	—
	腐胺 Putrescine	—	—	0.21	—

在陇川试验点，对第 1 主成分影响较大的碳源有 15 种，主要包括多聚化合物类 2 种，碳水化合物类 6 种，羧酸类化合物 2 种，氨基酸类化合物 4 种，酚酸类 1 种(呈负相关)；对第 2 主成分影响较大的有 10 种，碳水化合物类 3 种(均呈负相关)，酚酸类 1 种(呈负相关)，羧酸类化合物 3 种(其中 α-丁酮酸和 γ-羟基丁酸呈显著负相关，衣康酸呈正相关)，氨基酸类化合物 2 种(其中 L-苏氨酸正相关，甘氨酰-L-谷氨酸显负相关)，胺类化合物 1 种(呈负相关)。在元江试验点，对第 1 主成分影响较大的碳源也有 15 种，多聚化合物类 1 种，碳水化合物类 5 种，羧酸类化合物 3 种(其中 α-丁酮酸呈负相关，其余呈正相关)，氨基酸类化合物 4 种，胺类化合物 2 种；对第 2 主成分影响较大的碳源有 12 种，多聚化合物类 1 种，碳水化合物类 2 种，羧酸类化合物 5 种(其中丙酮酸甲脂呈负相关，其余呈正相关)，氨基酸类化合物 3 种(其中 L-天冬酰胺酸呈正相关，L-苏氨酸和 L-苯基丙氨酸呈负相关)，酚酸类化合有 1 种。

两个试验点的结果表明，碳水化合物类、羧酸类和氨基酸这 3 类碳源是区分甘蔗单作和间作处理间差异的敏感碳源。

3 讨论与结论

3.1 甘蔗间作玉米提高了甘蔗根际土壤微生物的活性

AWCD 值是反映土壤微生物代谢活性的重要指标。本研究结果表明，甘蔗与玉米间作后，陇川和元江两个试验点间作甘蔗根际土壤微生物活性均提高了 74%以上，表明甘蔗与玉米间作明显提高了甘蔗根际土壤微生物的活性，该结果与甘蔗/花生间作[14]和甘蔗大豆间作[13]后土壤根际微生物活性结果一致。由此表明，甘蔗间作玉米多样性种植对根际土壤微生物活性具有明显的改善作用，从而使甘蔗间作种植表现出明显的增产潜力。

3.2 甘蔗间作玉米对根际微生物多样性的影响

作物合理的间作能提高土壤微生物多样性[30–35]。本研究运用 Biolog 技术对甘蔗间作玉米田的土壤微生物代谢功能多样性进行了分析，研究发现无论是 AWCD、微生物多样性指数，还是对 31 种碳源的利用率，甘蔗间作都高于甘蔗单作，表明甘蔗间作玉米能提高甘蔗田土壤微生物多样性，与张爱加等[13]报道的甘蔗间作大豆提高了土壤微生物多样性结果一致。

本研究中对微生物代谢功能多样性的主成分分析表明，甘蔗与玉米间作后明显改变了甘蔗根际微生物群落功能的多样性，间作引起的根际微生物群落功能多样性的改变主要是由微生物对碳源利用的差异所引起，在陇川试验点利用率较高的碳源主要是 6 种碳水化合物类、2 种羧酸类化合物和 4 种氨基酸类，在元江试验点利用率较高的碳源主要是 5 种碳水化合物类、3 种羧酸类化合物和 4 种氨基酸类化合物。这表明碳水化合物类、氨基酸和羧酸类是区分单作与间作处理间微生物群落功能多样性差异的敏感碳源，由此可以得出甘蔗玉米间作条件下根际微生物利用碳水化合物类、氨基酸和羧酸类碳源的差异是根际微生物功能多样性改变的重要原因，该结果与小麦和蚕豆间作[34,36]、水稻(*Oryza sativa*)与西瓜(*Citrullus lanatus*)间作[32,37]、桑树(*Morus alba*)与大豆间作[38]、魔芋(*Amorphophalms konjac*)与玉米间作[35]研究结果相似。而据 Badri 等[39]报道，土壤微生物多样性变化能影响作物的次生代谢产物，从而影响植食性害虫的取食选择行为。而 Varun 等[18]报道甘蔗间作玉米对甘蔗螟虫具有良好的控制作用，张红叶等[17]也报道甘蔗间作玉米显著减低甘蔗绵蚜的虫情指数。其原因是否是由于间作系统土壤微生物多样性的变化引起，值得进一步探究。

3.3 甘蔗间作玉米对根际土壤微生物不同碳源利用的影响

本研究发现，甘蔗间作玉米，提高了对不同碳源的利用率，且对不同碳源的利用率也不尽相同，如元江试验点间作田甘蔗根际土壤微生物对碳水化合物类、氨基酸类、多聚物类、胺类、羧酸类和酚酸类的平均利用率分别提高 141.71%、50.53%、62.38%、92.82%、43.21%和 6.30%，而陇川的提高效率低于元江，对碳水化合物类、氨基酸类、羧酸类、多聚物类、胺类和酚酸类的平均利用率分别提高 42.90%、51.50%、33.30%、42.64%、16.72%和 24.47%。由此表明，甘蔗间作玉米明显提高了土壤对酚酸类、氨基酸类和碳水化合物的利用率。同时，两个试验点根际土壤对不同碳源物质利用率的促进作用存在一定的差异，原因可能是由于两个地区原有土壤质地和气候的差异所致。

此外，2-羟本甲酸又名水杨酸，有些植物在被昆虫取食后诱导其产生该物质，使其对昆虫产生抗性，从而影响昆虫生长发育[40]，间作甘蔗田甘蔗根际微生物对酚酸类的 2-羟本甲酸的利用显著增加，其中元江和陇川试验点分别提高 228.93%和 105.42%。而

据报道，甘蔗间作玉米种植后对甘蔗主要害虫表现出良好的控制作用[17,39]，而这种控制作用是否与间作提高了土壤对根际微生物的利用率，还值得进一步深入研究。此外，甘蔗间作玉米种植后，甘蔗根际土壤微生物对不同碳源物质的利用率存在一定差异，其中两试验点间作田对 D-纤维二糖、D,L-a-甘油、D-半乳糖-γ-内酯、L-丝氨酸、甘氨酰-L-谷氨酸、2-羟苯甲酸提高率均在 100%以上，对不同碳源的利用率的变化是否有利于促进甘蔗的产量，也值得进一步探究。

4　结论

本研究发现宿根甘蔗间作种植玉米有效提高了甘蔗根际土壤微生物的多样性及其活性，改变了微生物群落的结构和代谢功能，降低了土壤微生物群落结构与功能的失调，对保护甘蔗田土壤微生物具有重要意义，该研究结果将为作物间作对土壤微生物多样性分析及增产机理研究提供新的思路和理论依据。

本研究还发现，碳水化合物、羧酸类和氨基酸这3类碳源可作为区分甘蔗单作和间作处理甘蔗根际土壤微生物代谢差异的敏感碳源。但是，对于甘蔗间作玉米最终是改变了土壤中那一类微生物，这些微生物在土壤微生物群落结构及对甘蔗和玉米生长发育的调控作用还值得进一步深入研究。

致谢　云南省元江县农技中心李成真，云南农业大学植物保护学院 2010 级硕士研究生王益星，2011 级硕士研究生刘虎威和宁格，2011 级植物保护专业蒲昌升、朱响、刘明富和张发闵，2011 级植物检疫专业洪丹和程星梦等同学参与了本试验的部分工作，谨表谢意！

参考文献　References

[1] 王光华，金剑，徐美娜，等. 植物、土壤及土壤管理对土壤微生物群落结构的影响[J]. 生态学杂志，2006，25(5): 550–556
Wang G H, Jin J, Xu M N, et al. Effects of plant, soil and soil management on soil microbial community diversity[J]. Chinese Journal of Ecology, 2006, 25(5): 550–556

[2] Hofman J, Dušek L, Klánová J, et al. Monitoring microbial biomass and respiration in different soils from the Czech Republic — A summary of results[J]. Environment International, 2004, 30(1): 19–30

[3] Li C J, Dong Y, Li H G, et al. Shift from complementarity to facilitation on P uptake by intercropped wheat neighboring with faba bean when available soil P is depleted[J]. Scientific Report, 2016, 6: 18663, doi: 10.1038/srep18663

[4] Zelles L, Bai Q Y, Beck T, et al. Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1992, 24(4): 317–323

[5] Bünemann E K, Bossio D A, Smithson P C, et al. Microbial community composition and substrate use in a highly weathered soil as affected by crop rotation and P fertilization[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(6): 889–901

[6] Li L, Li S M, Sun J H, et al. Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(27): 11192–11196

[7] 柴强，黄鹏，黄高宝. 间作对根际土壤微生物和酶活性的影响研究[J]. 草业学报, 2005, 14(5): 105–110
Chai Q, Huang P, Huang G B. Effect of intercropping on soil microbial and enzyme activity in the rhizosphere[J]. Acta Prataculturale Sinica, 2005, 14(5): 105–110

[8] Yusuf A A, Abaidoo R C, Iwuafor E N O, et al. Rotation effects of grain legumes and fallow on maize yield, microbial biomass and chemical properties of an Alfisol in the *Nigerian savanna*[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2009, 129(1/3): 325–331

[9] 李春格，李晓鸣，王敬国. 大豆连作对土体和根际微生物群落功能的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(4): 1144–1150
Li C G, Li X M, Wang J G. Effect of soybean continuous cropping on bulk and rhizosphere soil microbial community function[J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(4): 1144–1150

[10] 牛秀群，李金花，张俊莲，等. 甘肃省干旱灌区连作马铃薯根际土壤中镰刀菌的变化[J]. 草业学报，2011，20(4): 236–243
Niu X Q, Li J H, Zhang J L, et al. Changes of *Fusarium* in rhizosphere soil under potato continuous cropping systems in arid-irrigated area of Gansu Province[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2011, 20(4): 236–243

[11] 王文鹏，毛如志，陈建斌，等. 种植方式对玉米不同生长期土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(10): 1293–1301
Wang W P, Mao R Z, Chen J B, at al. Analysis of functional diversity of soil microbial communities under different cultivation patterns at different growth stages of maize[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(10): 1293–1301

[12] 马玲，马琨，杨桂丽，等. 马铃薯连作栽培对土壤微生物多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(5): 589–596
Ma L, Ma K, Yang G L, et al. Effects of continuous potato cropping on the diversity of soil microorganisms[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(5): 589–596

[13] 张爱加，周明明，林文雄. 不同种植模式对甘蔗根际土壤生物学特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报，2013，19(6): 1525–1532
Zhang A J, Zhou M M, Lin W X. Effects of different cultivation patterns on microorganism of soil rhizosphere in sugarcane fields[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2013, 19(6): 1525–1532

[14] 沈雪峰，方越，董朝霞，等. 甘蔗/花生间作对土壤微生物

和土壤酶活性的影响[J]. 作物杂志, 2014, 162(5): 55–58
Shen X F, Fang Y, Dong Z X, et al. Effects of sugarcane/peanut intercropping on soil microbes and soil enzyme activities[J]. Crops, 2014, 162(5): 55–58

[15] 李志贤, 杨文亭, 王建武. 甘蔗–甜玉米间作对甘蔗产量、品质及经济效益的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(1): 98–104
Li Z X , Yang W T, Wang J W. Effect of sugarcane-sweet corn intercropping on yield, quality and economic benefit of sugarcane[J]. Chinese Journal of Ecology, 2014, 33(1): 98–104

[16] 陈斌, 和淑琪, 张立敏, 等. 甘蔗间作玉米对亚洲玉米螟发生为害的控制作用[J]. 植物保护学报, 2015, 42(4): 591–597
Chen B, He S Q, Zhang L M, et al. Control efficacy of maize-sugarcane intercropping against the occurrence and the damage of *Ostrinia furnacalis*[J]. Journal of Plant Protection, 2015, 42(4): 591–597

[17] 张红叶, 陈斌, 李正跃, 等. 甘蔗玉米间作对甘蔗绵蚜及瓢虫种群的影响作用[J]. 西南农业学报, 2011, 24(1): 124–127
Zhang H Y, Chen B, Li Z Y, et al. Effect of sugarcane plants intercropped with maize on population of *Ceratovacuna lanigera* Zehntner and Coccinellidae[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2011, 24(1): 124–127

[18] Varun C L, Singh S, Singh H N. Effect of intercropping of spices on the incidence of top borer (*Scirpophaga excerptalis* Wlk.) in sugarcane under bhat soil condition[J]. Indian Sugar, 1990, 39(10): 751–756

[19] Kamruzzaman M, Hasanuzzaman M. Factors affecting profitability of sugarcane production as monoculture and as intercrop in selected areas of Bangladesh[J]. Bangladesh Journal of Agricultural Research, 2007, 32(3): 433–444

[20] 李志贤, 冯远娇, 杨文亭, 等. 甘蔗间作种植研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(4): 884–888
Li Z X, Feng Y J, Yang W T, et al. The progress of research on sugarcane intercropping[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2010, 18(4): 884–888

[21] Suman A, Lal M, Singh A K, et al. Microbial biomass turnover in Indian subtropical soils under different sugarcane intercropping systems[J]. Agronomy Journal, 2006, 98(3): 698–704

[22] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 2012: 54–57
Cheng L J, Xue Q H. Laboratory Manual of Microbiology[M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2012: 54–57

[23] Anderson T H. Microbial eco-physiological indicators to asses soil quality[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2003, 98(1/3): 285–293

[24] 时鹏, 高强, 王淑平, 等. 玉米连作及其施肥对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(22): 6173–6182
Shi P, Gao Q, Wang S P, et al. Effects of continuous cropping of corn and fertilization on soil microbial community functional diversity[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(22): 6173–6182

[25] Weber K P, Grove J A, Gehder M, et al. Data transformations in the analysis of community-level substrate utilization data from microplates[J]. Journal of Microbiological Methods, 2007, 69(3): 461–469

[26] 王强, 戴九兰, 吴大千, 等. 微生物生态研究中基于 BIOLOG 方法的数据分析[J]. 生态学报, 2010, 30(3): 817–823
Wang Q, Dai J L, Wu D Q, et al. Statistical analysis of data from BIOLOG method in the study of microbial ecology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(3): 817–823

[27] 杨永华, 姚健, 华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(2): 23–25
Yang Y H, Yao J, Hua X M. Effect of pesticide pollution against functional microbial diversity in soil[J]. Journal of Microbiology, 2000, 20(2): 23–25

[28] 毛如志, 王文鹏, 李彬, 等. Biolog ECO 和 DGGE 数据几种分析方法的比较研究[J]. 土壤与作物, 2014, 3(2): 68–75
Mao R Z, Wang W P, Li B, et al. Comparison among several methods for Biolog ECO and DGGE data analysis[J]. Soil and Crop, 2014, 3(2): 68–75

[29] Choi K H, Dobbs F C. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities[J]. Journal of Microbiological Methods, 1999, 36(3): 203–213

[30] 杨智仙, 汤利, 郑毅, 等. 不同品种小麦与蚕豆间作对蚕豆枯萎病发生、根系分泌物和根际微生物群落功能多样性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(3): 570–579
Yang Z X, Tang L, Zheng Y, et al. Effects of different wheat cultivars intercropped with faba bean on faba bean Fusarium wilt, root exudates and rhizosphere microbial community functional diversity[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2014, 20(3): 570–579

[31] Song Y N, Zhang F S, Marschner P, et al. Effect of intercropping on crop yield and chemical and microbiological properties in rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum* L.), maize (*Zea mays* L.), and faba bean (*Vicia faba* L.)[J]. Biology and Fertility of Soils, 2007, 43(5): 565–574

[32] Hao W Y, Ren L X, Ran W, et al. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*[J]. Plant and Soil, 2010, 336(1/2): 485–497

[33] 李胜华, 谷丽萍, 刘可星, 等. 有机肥配施对番茄土传病害的防治及土壤微生物多样性的调控[J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 15(4): 965–969
Li S H, Gu L P, Liu K X, et al. Effects of combined application of organic fertilizers on the control of soil borne diseases and the regulation of soil microbial diversity[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2009, 15(4): 965–969

[34] 董艳, 董坤, 汤利, 等. 小麦蚕豆间作对蚕豆根际微生物群落功能多样性的影响及其与蚕豆枯萎病发生的关系[J]. 生态学报, 2013, 33(23): 7445–7454
Dong Y, Dong K, Tang L, et al. Relationship between rhizosphere microbial community functional diversity and faba bean fusarium wilt occurrence in wheat and faba bean intercropping system[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(23): 7445–7454

[35] 白学慧, 姬广海, 李成云, 等. 魔芋与玉米间栽对魔芋根际微生物群落代谢功能多样性的影响[J]. 云南农业大学学报, 2008, 23(6): 736–740
Bai X H, Ji G H, Li C Y, et al. Effects of konjac and maize intercropping on metabolic functional diversity of konjac rhizosphere microbial community[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2008, 23(6): 736–740
[36] 董艳, 董坤, 郑毅, 等. 不同品种小麦与蚕豆间作对蚕豆枯萎病的防治及其机理[J]. 应用生态学报, 2014, 25(7): 1979–1987
Dong Y, Dong K, Zheng Y, et al. Faba bean fusarium wilt (*Fusarium oxysporum*) control and its mechanism in different wheat varieties and faba bean intercropping system[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25(7): 1979–1987
[37] 苏世鸣, 任丽轩, 霍振华, 等. 西瓜与旱作水稻间作改善西瓜连作障碍及对土壤微生物区系的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(3): 704–712
Su S M, Ren L X, Huo Z H, et al. Effects of intercropping watermelon with rain fed rice on fusarium wilt and the microflora in the rhizosphere soil[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(3): 704–712
[38] 李鑫, 张会慧, 岳冰冰, 等. 桑树–大豆间作对盐碱土碳代谢微生物多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(7): 1825–1831
Li X, Zhang H H, Yue B B, et al. Effects of mulberry-soybean intercropping on carbon-metabolic microbial diversity in saline-alkaline soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(7): 1825–1831
[39] Badri D V, Zolla G, Bakker M G, et al. Potential impact of soil microbiomes on the leaf metabolome and on herbivore feeding behavior[J]. New Phytologist, 2013, 198(1): 264–273
[40] 龙亚芹, 王万东, 王美存, 等. 水杨酸(SA)诱导植物对病虫害产生抗性及作用机制研究[J]. 热带农业科学, 2009, 29(12): 46–50
Long Y Q, Wang W D, Wang M C, et al. Salicylic acid induced resistance of plants against insects and diseases and its interaction mechanism[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2009, 29(12): 46–50